

Z. Klin. Chem. Klin. Biochem.
12. Jg. 1974, S. 344–349

Eine Methode zur direkten Bestimmung des Creatinins in Serum und Harn ohne Enteiweißung nach einer modifizierten Jaffé-Methode

Von R. Helger, H. Rindfrey und J. Hilgenfeldt

Aus der Biochemischen Abteilung der E. Merck, Darmstadt und dem Klinisch-Chemischen Institut (Direktor: Prof. Dr. Dr. V. Klingmüller) Klinikum Mannheim der Universität Heidelberg

(Eingegangen am 6. Februar/3. April 1974)

Es wird über eine Methode zur Bestimmung von Creatinin in Serum und Harn mit alkalischer Pikratlösung (Jaffé-Reaktion) ohne Enteiweißung berichtet. Der störende Einfluß von Nebenreaktionen wurde durch Optimierung der wichtigsten Test-Parameter weitgehend ausgeschlossen. Die Bestimmung kann mit einem Testsatz sowohl manuell als auch an mechanisierten Analysensystemen, die den Reaktionsverlauf registrieren, wie z. B. dem LKB 8600 Reaction Rate Analyzer, durchgeführt werden. Die Brauchbarkeit der Methode wurde in einem klinischen Labor bestätigt.

A method for the direct estimation of creatinine in serum and urine

A method is described for the determination of creatinine in serum and urine based on the picrate reaction under alkaline conditions (Jaffé), but without deproteinisation. Interference by side-reactions has been largely excluded by optimizing the main assay parameters. The determination can be performed with a manual test kit, or with an automatic kinetic measuring device like the LKB 8600 Reaction Rate Analyzer. The utility of the method was proved in a clinical laboratory.

Die Creatininbestimmung in Serum und Harn gilt als der wichtigste Suchtest auf eine eingeschränkte Nierenfunktion bei Niereninsuffizienz, die durch eine Retention harnpflichtiger Substanzen gekennzeichnet ist. Zur Bestimmung des Creatinins wird im allgemeinen die Reaktion mit Pikrinsäure im alkalischen Milieu unter Bildung eines orange-gelben Farbstoffes, der photometrisch bestimmbar ist, herangezogen. Die von Jaffé (1) zuerst beschriebene Methode liefert in der Regel zu hohe Werte, da außer Creatinin noch sogenannte Jaffé-positive Substanzen miterfaßt werden. Die wichtigsten dieser Pseudo-Creatinin-Chromogene sind Acetessigsäure, Pyruvat, Glucose, Ascorbinsäure, Aceton und Glycocyamidin. Diesen Nachteil versuchte man schon vielfach durch verschiedene Modifikationen der Methode zu umgehen.

Zur spezifischen Adsorption von Creatinin und damit zur Abtrennung von störenden Substanzen wurde bisher meistens Lloyds-Reagenz (Fuller-Erde) verwendet (2, 3). In den letzten Jahren wurden auch Methoden zur selektiven Adsorption von Creatinin an organischen Ionenaustauschern beschrieben (4). Diese Methoden besitzen zwar eine hohe Spezifität, sind aber technisch aufwendig und sowohl für Einzelbestimmungen als auch für grössere Serien in der Routine nur beschränkt geeignet. Einen gewissen Einfluß auf die Spezifität hat die Art

der Enteiweißung; man erhält deutlich niedrigere Resultate nach Dialyse, doch können auch hierdurch niedermolekulare Störsubstanzen, wie Acetessigsäure, nicht eliminiert werden (5). In vielen Arbeiten wurde versucht, durch die Wahl optimaler Reaktionsbedingungen (z. B. Pikrinsäurekonzentration, pH-Wert und Reaktionszeit) Verbesserungen zu erzielen, doch scheint erst mit enzymatischen Methoden ein Weg zur absolut spezifischen Bestimmung des Creatinins gefunden worden zu sein (6, 7). Für die Routine wird aber die Jaffé-Reaktion weiterhin Bedeutung behalten und es erschien gerechtfertigt, nach neuen Möglichkeiten zu suchen, deren Spezifität zu erhöhen und die Methodik beispielsweise durch Verzicht auf eine Enteiweißung zu vereinfachen.

Den ersten Veröffentlichungen von Grisler und Castelnovo (8) und von Bartels und Boehmer (9) folgten sehr bald weitere Arbeiten (10–19), in welchen Methoden zur Creatininbestimmung ohne Enteiweißung beschrieben wurden. Durch drastische Verringerung der seither üblichen Pikrinsäurekonzentration im Ansatz konnte die irreversible Ausfällung von Eiweiß vermieden werden. Da die Serumproben jetzt nicht mehr durch ein Fällungsmittel verdünnt werden, wird eine beachtliche Empfindlichkeitssteigerung erzielt bzw. wird weniger Serum zur Analyse benötigt. Aufbauend auf den von Bartels et al (20–23) durchgeführten Untersuchungen wurde eine

Methode für die direkte Creatininbestimmung ausgearbeitet, die sowohl die manuelle Durchführung kleiner Analysenserien wie auch die Verwendung mechanisierter Analysensysteme erlaubt. Verschiedene Parameter wurden optimiert und die Brauchbarkeit der Methode im praktischen Einsatz nachgewiesen.

Methodik

Reagenzien

- für die manuelle Bestimmung
(Merckotest Creatinin, E. Merck Nr. 3385)
 - Pufferlösung: NaOH, 313 mmol/l; Na₂HPO₄, 12,5 mmol/l
 - Pikrinsäure, 8,73 mmol/l;
 - Standardlösung: Creatinin, 88,4 µmol/l
10 mmol/l Salzsäure
- für die mechanisierte Bestimmung
(Merckotest Automatenpackung Creatinin, E. Merck Nr. 3384)
 - Pufferlösung: NaOH, 1,565 mol/l;
Na₂HPO₄, 62,5 mmol/l
 - Pikrinsäure, 4,37 mmol/l
- für die Technicon Autoanalyzer-Methode
 - Natriumchlorid-Brij-Lösung (E. Merck Nr. 9407)
(NaCl, 154 mmol/l)
 - Pikrinsäurelösung (E. Merck Nr. 10478)
(C₆H₃N₃O₇, 52,4 mmol/l)
 - Natronlauge (E. Merck Nr. 9144)
(NaOH, 500 mmol/l)

Haltbarkeit

Alle Lösungen sind verschlossen aufbewahrt bei 15° bis 25° C 1 Jahr haltbar.

Geräte

Spektrallinien-Filterphotometer Eppendorf, Meßwellenlänge 492 nm;
LKB-Reaction-Rate-Analyzer 8600, Filter 500 nm;
Technicon Autoanalyzer, 1. Generation

Durchführung der Versuche

Manuelle Bestimmung

Die Reaktion ist sehr temperaturempfindlich. Deshalb müssen die Pufferlösung (1) und die Pikrinsäure (2) exakt vortemperiert werden; die Reaktion muß bei konstant gehaltenen Temperatur ablaufen. Insbesondere muß die Reaktionstemperatur des Standards und der Analysen identisch sein. Wenn diese Bedingungen erfüllt sind, kann bei beliebigen Temperaturen zwischen 20° und 37° C gearbeitet werden. Zu jeder Analysenserie werden ein bis zwei Standards angesetzt. In Reagenzgläser werden pipettiert:

	Analyse	Standard
Serum oder 1 + 99 verd. Harn	0,5 ml	—
Standardlösung (3)	—	0,5 ml
Pikrinsäure (2)	1,0 ml	1,0 ml

Mischen, etwa 5 min temperieren.

Pufferlösung (1)	1,0 ml	1,0 ml
------------------	--------	--------

Mischen, sofort in die Küvette gießen, innerhalb von 1 min, Extinktion E₁ und genau 5 min nach der ersten Messung Extinktion E₂ messen (Wellenlänge 492 nm, Schichtdicke 1 cm); Analyse und Standard müssen identisch behandelt werden. Bei Reaktionstemperaturen über 30° C muß die Extinktion E₁ innerhalb von 30 s gemessen werden. Bei Werten über 442 µmol/l Creatinin (50 mg/l Creatinin) Serum oder 1 + 99 verd. Harn wird

die Bestimmung mit der 1 + 5 mit physiologischer Natriumchloridlösung verdünnten Probe wiederholt und das Ergebnis mit 6 multipliziert.

Die Berechnung erfolgt nach folgender Formel:

$$\text{Serum-Creatinin-Konzentration} = \frac{E_{A2} - E_{A1}}{E_{S2} - E_{S1}} \cdot 88,4 \mu\text{mol/l}$$

(E_A = Extinktion der Analyse, E_S = Extinktion des Standards). Die Berechnungsformel für die Harn-Creatinin-Konzentration unterscheidet sich hiervon durch die zusätzliche Multiplikation mit dem Verdünnungsfaktor 100.

Mechanisierte Bestimmung am LKB-Reaction Rate Analyzer 8600

Geräteeinstellung (vgl. auch Bedienungsanleitung des Herstellers): Filter 490 oder 500 nm, Reaktionsverlauf increase, Hintergrundblende OA (operate), Einspritzdüse weiß, Dosiervolumen 100 µl, Registrierbereich 0,200, Meßzeit pro Probe 1 min, Papiervorschub 60 mm/min.

Analysenschema (zu jeder Analysenserie werden 2 bis 3 Standards angesetzt):

	Analyse	Standard
Standardlösung (3)	—	200 µl
Serum oder 1 + 99 verd. Harn	200 µl	—
Pikrinsäurelösung (4)	1000 µl	1000 µl

15 min bei 35° C vorinkubieren.

Pufferlösung (5)	100 µl	100 µl
------------------	--------	--------

Mischen und Reaktionsverlauf messen. Bei Werten über 844 µmol/l (100 mg/l Creatinin) wird die Bestimmung mit der 1 + 5 mit physiologischer Natriumchloridlösung verdünnten Probe wiederholt und das Ergebnis mit 6 multipliziert. Zur Berechnung ermittelt man aus den Reaktionskurven ΔE_S/min bzw. ΔE_A/min und setzt diese Werte in die folgende Formel ein:

$$\text{Serum-Creatinin-Konzentration} = \frac{\Delta E_A / \text{min}}{\Delta E_S / \text{min}} \cdot 88,4 \mu\text{mol/l}$$

(E_A = Extinktion der Analyse, E_S = Extinktion des Standards). Zur Berechnung der Harn-Creatinin-Konzentration vgl. manuelle Bestimmung.

Bestimmung am Technicon Autoanalyzer

Entsprechend der Technicon-Methodology N-11 b, 60 Proben/Stunde, Berechnung über eine Standard-Bezugskurve.

Ergebnisse

Die Umsetzung von Creatinin mit Pikrinsäure, aber auch die Bildung der Pseudo-Creatinin-Chromogene, ist stark von der Alkalikonzentration im Testansatz abhängig. Bei der Umsetzung von Creatinin-Standardlösungen (88,4 µmol/l, 0,5 ml) bzw. von Humansenen mit Pikrinsäurelösung (5,67 mmol/l, 1,0 ml) und Natronlauge (1,0 ml) unterschiedlicher Konzentration nimmt mit steigender Alkalikonzentration die Meßempfindlichkeit (Extinktionsdifferenz pro 10 Minuten) zu und erreicht bei etwa 400 mmol/l Alkali ein Maximum (Tab. 1). Ein gleiches Verhalten zeigen die Serumproben, jedoch setzt bei höheren Alkalikonzentrationen nach relativ kurzer Zeit eine Zweitreaktion ein, die zu einem schnellen Extinktionsanstieg führt (Abb. 1 und 2). Diese Zweitreaktion kann verhindert werden, wenn die Alkalikonzentration 400 mmol/l nicht übersteigt.

Tab. 1. Abhängigkeit der Reaktion einer wäßrigen, salzsauren Creatinin-Standardlösung (88,4 $\mu\text{mol/l}$, 0,5 ml) bzw. von Serum (0,5 ml) mit Pikrinsäure (5,67 mmol/l, 1,0 ml) und Natronlauge (1,0 ml) von der Konzentration der Natronlauge.

NaOH-Konzentration mmol/l	$\Delta E_{492}/10 \text{ min bei } 30^\circ \text{C}$	
	Standard	Serum
100	0,077	0,060
200	0,110	0,110
400	0,123	0,145
500	0,103	0,120

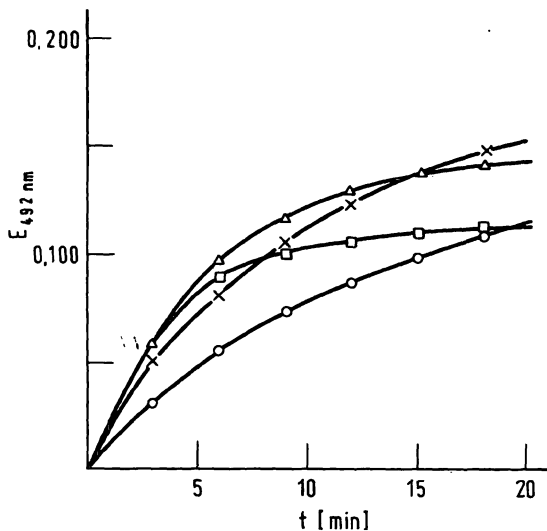


Abb. 1. Reaktionsverlauf der Umsetzung einer Creatinin-Standardlösung (88,4 $\mu\text{mol/l}$; 0,5 ml) mit Pikrinsäurelösung (5,67 mmol/l; 1,0 ml) und Natronlauge (1,0 ml) unterschiedlicher Konzentration.

○ = 100 mmol/l, × = 200 mmol/l,
△ = 400 mmol/l, □ = 500 mmol/l Natriumhydroxid-
lösung.

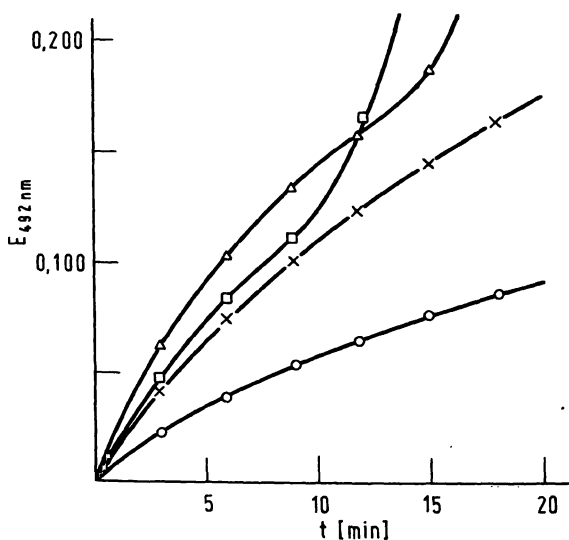


Abb. 2. Reaktionsverlauf der Umsetzung von Humanserum (0,5 ml) mit Pikrinsäurelösung (5,67 mmol/l; 1,0 ml) und Natronlauge (1,0 ml) unterschiedlicher Konzentration.

○ = 100 mmol/l, × = 200 mmol/l,
△ = 400 mmol/l, □ = 500 mmol/l Natriumhydroxid-
lösung

Tab. 2. Abhängigkeit der Reaktion einer wäßrigen, salzsauren Creatinin-Standardlösung (88,4 $\mu\text{mol/l}$, 0,5 ml) bzw. von Serum (0,5 ml) mit Natronlauge (500 mmol/l, 1,0 ml) und Pikrinsäure (1,0 ml) von der Konzentration der Pikrinsäurelösung.

Pikrinsäurekonzentration mmol/l	$\Delta E_{492}/10 \text{ min bei } 30^\circ \text{C}$	
	Standardlösung'	Serum
4,36	0,113	0,120
5,67	0,120	0,147
8,72	0,118	0,165
17,46	0,100	0,187
26,19	0,075	0,205

Die Meßempfindlichkeit kann auch durch die Wahl der Pikrinsäurekonzentration beeinflusst werden. Tabelle 2 zeigt die Abhängigkeit der Reaktion von Creatinin-Standardlösungen (88,4 $\mu\text{mol/l}$, 0,5 ml) und von Humanserum (0,5 ml) mit Natronlauge (500 mmol/l, 1,0 ml) und Pikrinsäurelösung (1,0 ml) unterschiedlicher Konzentration. Bei den Ansätzen mit den Standardlösungen nähert sich die Extinktionsdifferenz pro 10 Minuten mit steigender Pikrinsäurekonzentration einem Maximum und nimmt dann wieder ab. Bei den analogen Ansätzen mit Serum werden mit zunehmender Pikrinsäurekonzentration jeweils steigende Extinktionsdifferenzen gemessen, die Meßempfindlichkeit durchläuft kein Maximum. Die Zweitreaktion wird durch die Veränderung der Pikrinsäurekonzentration nicht beeinflusst (Abb. 3).

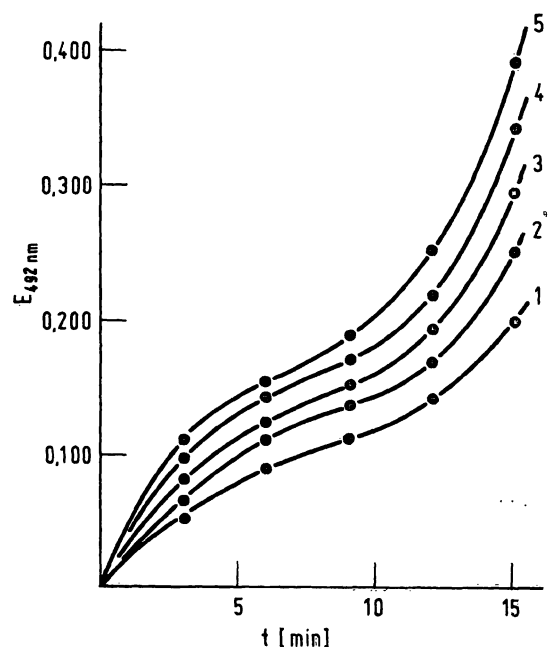


Abb. 3. Reaktionsverlauf der Umsetzung von Humanserum (0,5 ml) mit Natronlauge (500 mmol/l; 1,0 ml) und Pikrinsäurelösung (1,0 ml) unterschiedlicher Konzentration.

(1) = 4,36 mmol/l, (2) = 5,67 mmol/l,
(3) = 8,72 mmol/l, (4) = 17,46 mmol/l,
(5) = 26,19 mmol/l Pikrinsäurelösung

Unter Zusammenfassung aller Versuchsergebnisse fanden wir beim genannten Ansatz optimale Bedingungen bei Zugabe einer NaOH-Lösung mit einer Konzentration zwischen 200 und 300 mmol/l und Zugabe einer Pikrinsäurelösung mit einer Konzentration zwischen 17,5 und 26 mmol/l. Bei den Serumansätzen werden aber bereits bei einer Pikrinsäurekonzentration von mehr als 9 mmol/l geringe Mengen Protein ausgefällt. Diese lösen sich zwar nach Zugabe der NaOH-Lösung wieder, aber die Temperierung und das Mischen des Testansatzes bereiten Schwierigkeiten. Besonders die Verwendung dieser Methode an mechanisierten Analysensystemen, bei welchen ein intensives Mischen nicht immer gewährleistet ist, legte nahe, eine Pikrinsäurekonzentration von 9 mmol/l nicht zu überschreiten. Um möglichst weitgehend diese Einflüsse zu berücksichtigen, arbeiten wir abweichend zur Methode von Bartels et al. (20–23) mit folgenden Endkonzentrationen im Test (Werte nach (20) in Klammern): NaOH, 125 (200) mmol/l; Pikrinsäure, 3,5 (2,3) mmol/l.

Aufgrund der Abhängigkeit der Creatinin-Pikrinsäure-Reaktion von der Alkalikonzentration muß bei der Jaffé-Methode streng darauf geachtet werden, daß Proben und Standard bei gleichem pH-Wert reagieren (24, 16). In besonderem Maß gilt dies bei der direkten Creatinin-Bestimmung, da Serum-Eiweiß als Puffer wirkt. Um eine ähnliche Pufferwirkung im Standard zu erzielen, wurde die Verwendung einer mit Glycin/NaOH gepufferten Standardlösung vorgeschlagen (20), die aber nur kurze Zeit haltbar ist. Ausreichende Stabilität kann nur erreicht werden, wenn Creatinin in Säure gelöst wird. Um aber auch hier in den Standard- und Serumansätzen gleiche pH-Werte zu erhalten, wird dem Testansatz Phosphat in einer Konzentration von 5 mmol/l zugesetzt.

Unter den beschriebenen Bedingungen verläuft die Reaktion von Creatinin mit Pikrinsäure in Natronlauge in wäßrigen Standardlösungen und in Serumproben identisch. Die bei der Methode nach Bartels et al (20) in den Serumansätzen auftretende Zweitreaktion konnte ausgeschaltet werden (vgl. Abb. 4). Dadurch ist es möglich, Creatinin ohne gleichzeitige Erfassung von Pseudo-Creatinin-Chromogenen im Serum direkt zu bestimmen.

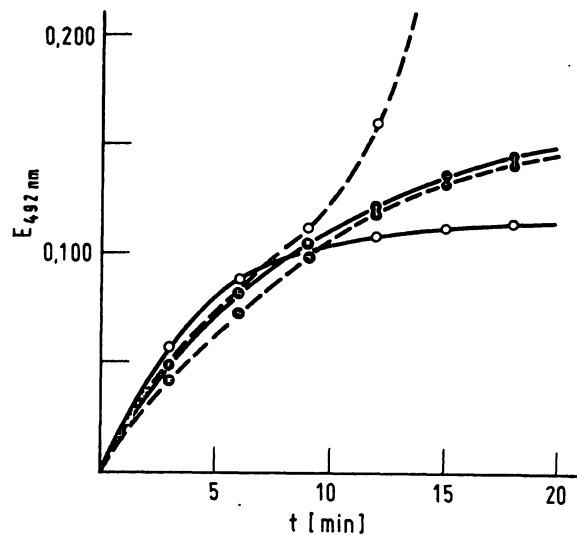


Abb. 4. Reaktionsverlauf der Umsetzung von Creatinin-Standardlösungen (durchgezogene Linie) und von Humanseren (gestrichelte Linie) nach der hier beschriebenen Methode (●—●) bzw. nach der Methode von Bartels et al (20) (○—○).

Die unter Methodik beschriebene Arbeitsanleitung berücksichtigt die bisher erläuterten Ergebnisse. Zum Nachweis der Brauchbarkeit in der Routine wurde Creatinin in 702 Seren und 184 Harnen auf dem LKB-Reaction Rate Analyzer 8600, sowie in 222 Seren und 63 Harnen manuell mit dem Photometer Eppendorf bestimmt. Als Vergleichsmethode diente die Creatininbestimmung mit dem Technicon Autoanalyzer. Die Creatininkonzentrationen der untersuchten Seren lagen zwischen 44,2 und 1856 $\mu\text{mol/l}$ (5 und 210 mg/l), die der Harnen zwischen 2,12 und 29,3 mmol/l. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 3 und 4 zusammengefaßt. Die Korrelation der mit dem Technicon Autoanalyzer und dem LKB Gerät bzw. manuell ermittelten Werte ist sehr gut. Erwartungsgemäß liegen die Werte der neuen Methode ohne Enteiweißung etwa 5 bis 15 % niedriger als nach der Technicon Autoanalyzer-Methode. Die Verdünnung der Proben bei Konzentrationen über 442 $\mu\text{mol/l}$ führt gegenüber unverdünnten Proben zu höheren Ergebnissen. Die Präzision von Tag zu Tag wurde an verschiedenen Kontrollseren ermittelt, die Ergebnisse sind in Tabelle 5

Tab. 3. Vergleich der Ergebnisse nach der Technicon Autoanalyzer-Methode und nach der beschriebenen Methode am LKB-Reaction Rate Analyzer 8600 (LKB)

	N	\bar{x} (Auto-analyzer) [$\mu\text{mol/l}$]	s (Auto-analyzer) [$\mu\text{mol/l}$]	\bar{x} (LKB-Analyzer) [$\mu\text{mol/l}$]	s (LKB-Analyzer) [$\mu\text{mol/l}$]	r	$y = a + bx$	Syx [$\mu\text{mol/l}$]
Serumwerte	702	259	292	233	279	0,930	$y = 3,71 + 0,953 x$	107
Werte über 442 $\mu\text{mol/l}$ (unverdünnt)	69	866	253	819	271	0,902	$y = 31,0 + 0,878 x$	114
Werte über 442 $\mu\text{mol/l}$ (verdünnt)	69	866	253	861	259	0,875	$y = 116 + 0,841 x$	128
Harnwerte	184	108	54,8	105	51,3	0,923	$y = 12,6 + 0,864 x$	20

Tab. 4. Vergleich der Ergebnisse nach der Technicon-Autoanalyzer-Methode und nach der beschriebenen Methode manuell mit dem Spektrallinien-Filterphotometer

	N	\bar{x} (Auto-analyzer) [$\mu\text{mol/l}$]	s (Auto-analyzer) [$\mu\text{mol/l}$]	\bar{x} (Eppendorf Photo-meter) [$\mu\text{mol/l}$]	s (Eppendorf Photo-meter) [$\mu\text{mol/l}$]	r	$y = a + bx$	Syx [$\mu\text{mol/l}$]
Serumwerte	222	301	301	268	298	0,987	$y = 32,3 + 0,988 x$	45,9
Harnwerte	63	118	51,3	103	44,2	0,952	$y = 8,75 + 0,792 x$	13,0

Tab. 5. Daten zur Präzision der beschriebenen Methode von Tag zu Tag. Mittelwert, Standardabweichung und Variationskoeffizient in Kontrollseren am LKB-Reaction Rate Analyzer 8600 (LKB) bzw. manuell mit dem Spektrallinien-Filterphotometer (Ep)

	Qualtrol LKB	Labtrol LKB	Ep	Pathotrol LKB	Ep	Monitrol IX LKB	Monitrol I LKB	Monitrol II LKB	Urinkontrolle LKB	Ep
N	25	29	25	31	20	20	23	24	20	20
\bar{x} ($\mu\text{mol/l}$)	84	87,5	81,3	115	103	115	116	312	61,9	62,8
s	4,42	3,54	3,54	3,54	4,42	5,30	7,1	11,5	3,54	1,77
VK %	5,26	4,0	4,35	3,1	4,29	4,61	6,1	3,68	5,71	2,82

Kontrollseren Qualtrol, Labtrol, Pathotrol, Monitrol der Firma Merz und Dade; Urinkontrolle der Firma Hyland.

zusammengefaßt. Bei Creatininkonzentrationen um $90 \mu\text{mol/l}$ liegt der Variationskoeffizient bei 5 %, wobei zwischen manueller und mechanisierter Durchführung nur geringe Differenzen bestehen. Der Normalbereich im Serum lag bei der Bestimmung mit dem LKB-Reaction Rate Analyzer zwischen 45 und $109 \mu\text{mol/l}$ (5,1 und 12,3 mg/l) ($N = 355$, $\bar{x} = 77 \mu\text{mol/l}$ bzw. 8,7 mg/l). Eine Differenzierung nach Männern und Frauen wurde nicht durchgeführt, trotzdem ist erkennbar, daß die Werte für Serum deutlich niedriger liegen als die von Dubach et al (25) für die Technicon Autoanalyzer-Methode mitgeteilten Normalbereiche im Serum für Männer $\bar{x} = 105 \mu\text{mol/l}$ (11,9 mg/l) bzw. für Frauen $\bar{x} = 84,9 \mu\text{mol/l}$ (9,6 mg/l).

Diskussion

Die vorliegende Methode für die Creatininbestimmung ohne Enteiweißung hat den Vorteil, daß infolge der geringen Pikrinsäurekonzentration die Messung im Extinktionsmaximum erfolgen kann und eine Eiweißfällung ausbleibt. Später einsetzende Nebenreaktionen haben wegen des schnellen Reaktionsablaufes zwischen Creatinin und der alkalischen Pikratlösung keinen Einfluß auf das Meßergebnis. Diese Modifikation der Jaffé-Reaktion zeichnet sich deshalb durch eine höhere Spezifität aus. Bei der angewandten Methode ist die Reaktionsgeschwindigkeit ein Maß für die Berechnung der Creatininkonzentration, d. h. es erfolgt je eine Extinktionsmessung zu Beginn und während der laufenden Reaktion. Da die Aktivierungsenergie der Jaffé-Reaktion äußerst niedrig ist, muß man darauf achten, unter möglichst standardisierten Bedingungen zu arbeiten. Die Temperatur und die Meßzeit müssen genau eingehalten

werden. Aus diesem Grund ist die Durchführung der Creatininbestimmung mit mechanisierten Analysensystemen, z. B. mit dem LKB-Reaction Rate Analyzer 8600, besonders einfach. Große Analysenserien können ohne großen Arbeitsaufwand durchgeführt werden. Beim Arbeiten mit dem LKB-Gerät sind nur 2 Pipettierungen, Serum und Pikrinsäure, notwendig. Die Reaktion wird durch automatische Zugabe der Pufferlösung gestartet. Es genügt das Mitführen eines Standards in jeder Serie. Eine Verdünnung der Probe ist anders als bei der manuellen Durchführung erst bei einer Creatininkonzentration von mehr als $900 \mu\text{mol/l}$ (etwa 100 mg/l) erforderlich. Die Korrelation der mit dem Technicon Autoanalyzer und dem LKB-Gerät ermittelten Werte ist mit $r = 0,93$ sehr eng.

Die beschriebene manuelle Durchführung der Creatininbestimmung mit einem Spektrallinien-Filterphotometer eignet sich sehr gut für das kleine und mittlere Laboratorium, wo nur kleine Analysenserien anfallen. Größere Serien lassen sich nach dieser Methode manuell nicht rationell durchführen, da der Arbeitsaufwand zu groß ist. Der Wegfall der Enteiweißung bedeutet jedoch eine wesentliche Erleichterung. Es muß aber auch hier besonders darauf geachtet werden, daß die Reaktionszeiten und die Temperaturen von Standard und Proben identisch sind. Durch die Verwendung von Einmalküvetten wird die Vorbereitung der Analyse und das Einhalten der Reaktionszeit erleichtert.

Der Vergleich der in Seren manuell gefundenen Ergebnisse mit den Technicon Autoanalyzer-Werten ergibt mit $r = 0,987$ eine sehr enge Korrelation. Der Normalbereich für Seren bei Männern von 62 bis $106 \mu\text{mol/l}$ (7 bis 12 mg/l) und bei Frauen von 44 bis $88 \mu\text{mol/l}$ (5 bis 10 mg/l) konnte bestätigt werden.

Literatur

1. Jaffé, M. (1886), Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 10, 391–400
2. Knoll, E. & Stamm, D. (1970), diese Z. 8, 582–587.
3. Owen, I. A., Iggo, B., Scandrett, F. J. & Stewart, C. P. (1954), Biochem. J. 58, 426–437
4. Rockerbie, R. A. & Rasmussen, K. L. (1967), Clin. Chim. Acta 15, 475–479.
5. Watkins, P. J. (1967), Clin. chim. Acta 18, 191–196.
6. McLean, M. H. & Gallwas, I. (1972), Scand. J. Clin. Lab. Invest. 29, Suppl. 126
7. Wahlefeld, A. W., Herz, G. & Bergmeyer, H. U. (1972), Scand. J. Clin. Lab. Invest. 29, Suppl. 126.
8. Grisler, R. & Castelnovo, E. (1970), Quad. Sclavo Diagn. 6, 473–478.
9. Bartels, H. & Böhmer, M. (1971), Clin. Chim. Acta 32, 81–85.
10. Blennemann, H. (1971), Ärztl. Lab. 17, 363–368.
11. Cook, I. G. H. (1971), Clin. Chim. Acta. 32, 485–486.
12. Fabiny, D. L. & Ertinghausen, G. (1971), Clin. Chem. 17, 696–700.
13. Haury, H. (1972), Diagnostik 5, 226–229.
14. Heinegard, D. & Tiderström, G. (1973), Clin. Chim. Acta 43, 305–310.
15. Larsen, K. (1972), Clin. Chim. Acta 38, 475–476.
16. Larsen, K. (1972), Clin. Chim. Acta 41, 209–217.
17. Raabo, E. & Wallöe-Hansen, P. (1972), Scand. J. Clin. Lab. Invest. 29, 297–301.
18. Zender, R. & Jacot, P. (1972), Anal. Lett. 5, 143–152.
19. Knoll, E. & Wisser, H. (1973), diese Z. 11, 411–414.
20. Bartels, H., Böhmer, M. & Heierli, C. (1972), Clin. Chim. Acta 37, 193–197.
21. Bartels, H. (1972), Chemische Rundschau 25, 501–503.
22. Heierli, Ch., Thölen, H. & Bartels, H. (1972), Deut. Med. Wochenschr. 97, 67–70.
23. Bartels, H. (1973), Med. Laborat. 26, 209–215.
24. Bartels, H. & Cikes, M. (1969), Clin. Chim. Acta 26, 1–10.
25. Dubach, U. C., Merz, I. & Schmid, P. (1967), Klin. Wochenschr. 45, 621–628.

Dr. R. Helger
Biochem. Abt. E. Merck
6100 Darmstadt
Postfach